

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESEN

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



REC'D 09 DEC 2004

WIPO

PCT

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 6/2002 - PCT - 1	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE 03/02688	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 09.08.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 13.08.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N7/04		
Anmelder MARTIN-LUTHER-UNIVERSITÄT HALLE-WITTENBERG et al.		

<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt 7 Blätter.</p>
<p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Bescheids</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priorität</p> <p>III <input type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</p>

Datum der Einreichung des Antrags  04.02.2004	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  08.12.2004
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Heiduschat, C  Tel. +49 89 2399-7804 

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

**Beschreibung, Seiten**

7-10 in der ursprünglich eingereichten Fassung  
1-6 eingegangen am 30.06.2004 mit Schreiben vom 30.06.2004

**Ansprüche, Nr.**

5 in der ursprünglich eingereichten Fassung  
1-4 eingegangen am 30.06.2004 mit Schreiben vom 30.06.2004

**Zeichnungen, Blätter**

1/7-7/7 in der ursprünglich eingereichten Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,       Seiten:
- ☐ Ansprüche,       Nr.:

# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE 03/02688

☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

## V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

### 1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 2,5
	Nein: Ansprüche 1,3,4
Erfinderische Tätigkeit (IS)	Ja: Ansprüche none
	Nein: Ansprüche 1-5
Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)	Ja: Ansprüche: 1-5
	Nein: Ansprüche: none

### 2. Unterlagen und Erklärungen:

**siehe Beiblatt**

**Zu Punkt V**

**B gründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**1) Anmeldung**

Die vorliegende Anmeldung basiert auf einer Methode zur Herstellung virusanaloger Partikel durch in vitro-Assemblierung oder Assemblierung von Kapsomeren des Polyomavirus. Hierbei werden in Anwesenheit von nicht-ionischen Stabilisatoren biologisch aktive Makromoleküle verpackt, die an geladene Aminosäuren der Kapsomere gebunden sind.

**2) Stand der Technik**

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: DE-A-19952957

D2: WO-A-0142780

D3: McCarthy et al., Journal Of Virology, The American Society For Microbiology, US (1998), 72(1), 32-41

D4: WO-A-0057906

D5: Salunke et al., Biophysical Journal, New York, US, (11-1989), 56, 887-900

D6: Colomar et al., Journal Of Virology, New York, US, (01-05-1993), 67(5), 2779-2786

**3) Neuheit (Artikel 33(2) PCT)**

- 3.1 D1 beschreibt die Herstellung und Assemblierung von virusähnlichen Partikeln aus dem Hüllprotein VP1 von Polyomavirus. Die Assemblierung erfolgt nach Dialyse des rekombinant hergestellten Proteins gegen 10 mM HEPES, 50 mM NaCl, 0.5 mM  $\text{CaCl}_2$ , 5% Glycerin, pH 7.2 für 72 Stunden bei Raumtemperatur (s.S.10, Z.26-29).
- 3.2 D1 beschreibt auch die Verpackung von DNA in die virusähnlichen Partikel, die in Lösung mit einem Dialysepuffer mit 20 mM Natriumacetat, pH 5.0, 100 mM NaCl, 1 mM  $\text{CaCl}_2$  und 5% Glycerin über 4 Tage bei Raumtemperatur durchgeführt wird (s. Beispiel 10, S.13, Z.46-52).
- 3.3 Somit offenbart D1 alle wesentlichen technischen Merkmale der Ansprüche 1, 3 und 4 (Assemblierung von Polyomavirus Kapsomeren, verpacktes Makromolekül DNA, Polyol als nicht-ionischer Stabilisator) und ist somit neuheitszerstörend für diese Ansprüche.

**4) Erfinderische Tätigkeit (Artikel 33(3) PCT)**

- 4.1 Anspruch 2 ist auf ein Verfahren nach Anspruch 1 gerichtet, bei dem die Assemblierung in einem Puffer mit einer Ionenstärke unter 250 mM und in Gegenwart eines oxidierenden Redoxsystems durchgeführt wird.
- 4.2 Dokument D1, das als nächstliegender Stand der Technik angesehen wird, offenbart die Herstellung virusähnlicher Partikel zur Verpackung von Makromolekülen. Das von D1 beschriebene Verfahren unterscheidet sich vom Gegenstand des Anspruchs 2 indem kein oxididierendes Redoxsystem verwendet wird.
- 4.3 Die mit der vorliegenden Erfindung zu lösende Aufgabe kann somit darin gesehen werden, eine alternative Methode zur Assemblierung von Kapsomeren des Polyomavirus und zur Verpackung von Makromolekülen, wie z.B. DNA bereitzustellen.
- 4.4 Andere im Stand der Technik beschriebene Assemblierungsverfahren von Polyomavirus-Kapsomeren erwähnen den Entzug von reduzierenden Bestandteilen aus dem vorhergehenden Disassemblierungsschritt als eine wesentliche Voraussetzung zur Reassemblierung (D3: S.35, linke Spalte, Absatz 3 bis rechte Spalte Absatz 2; D2: Beispiele 3 bis 5, S.46-53). D2 schlägt zur Reassemblierung mit einem zu verpackenden Molekülen neben dem Entzug des Sulfhydryl Reduktionsmittel sogar die Zugabe eines Oxidationsmittels im Überschuss vor (S.22, Z.16-20; Anspruch 46). Laut D2 und D3 findet die Reassemblierung allerdings bei höheren Salzkonzentrationen (0.5 M NaCl) und damit höherer Ionenstärke statt, um die Partikel zu stabilisieren (D3: S.32, linke Spalte Absatz 4; D2: Beispiel 3, S.46). Auch die in D4 und D5 beschriebenen Methoden basieren auf hohen Salzkonzentrationen. Nach der Methode von D6 werden SV40 Hüllproteine durch Verringerung der Ionenstärke assembliert, allerdings in Anwesenheit von Reduktionsmittel.
- 4.5 In D1 werden außerdem auch modifizierte Hüllproteine, z.B. Fusionsproteine ohne Cysteine verwendet. Hier erscheint die Zugabe eines ein Redoxsystems nicht notwendig. Eine Kombination der in D1 genannten Methode mit den anderen Methoden des Standes der Technik, erlaubt zahlreiche Variationen verschiedener Parameter, wie z.B. von pH-Wert, Ionenstärke, Stabilisatoren und Redoxbedingungen. Daher erscheint die in der vorliegenden Anmeldung vorgeschlagene spezifische Kombination von Stabilisator, Ionenstärke und Redoxbedingungen nicht nahegelegt.
- 4.6 Der Gegenstand von Anspruch 2 beruht somit auf einer erfinderischen Tätigkeit und erfüllt damit das in Artikel 33(3) PCT genannte Kriterium.
- 4.7 Ansprüche 3 bis 5 sind so formuliert, daß sie den Gegenstand von Anspruch 1, 2, 3 od r 4 beinhalten und diesen durch weitere technische Merkmale ergänzen. Der

Gegenstand dieser Ansprüche könnte nur als erfinderisch angesehen werden, sofern er die Merkmale von Anspruch 2 beinhaltet, d.h. wenn nicht nur optional auf Anspruch 2 verwiesen würde.

Verfahren zur Herstellung von virusanalogen Partikeln des Polyomavirus zur Verpackung von biologisch aktiven Makromolekülen durch in vitro-Assemblierung von Kapsomeren oder von Kapsomeren, an die biologisch aktive Makromoleküle gebunden sind

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur in vitro-Assemblierung von Kapsomeren des Polyomavirus oder von Kapsomeren des Polyomavirus, an die biologisch aktive Makromoleküle gebunden sind, zu virusanalogen Partikeln oder zur Verpackung biologisch aktiver Makromoleküle in diese virusanalogen Partikel während der in vitro-Assemblierung. Diese Komplexe stellen für die Gentherapie geeignete Vektoren dar. Sie ermöglichen es, biologisch aktive Makromoleküle in Zellen zu transduzieren, so dass diese dort funktionell sind. Als Kapsomere werden in diesem Fall natürlich vorkommende Virushüllproteine, rekombinant produzierte Virushüllproteine oder gentechnisch hergestellte Varianten von Virushüllproteinen bezeichnet.

Virusanaloge Partikel, im folgenden als VLP's abgekürzt, stellen eine aus einem oder mehreren Virushüllproteinen bestehende Virushülle dar. Sie können verschiedene Formen annehmen; im Fall der von Polyoma VP1 abgeleiteten VLP's etwa Hohlkugeln mit einem Durchmesser von ca. 40-50 nm, die aus 360 VP1 Molekülen, angeordnet in 72 Pentamere, aufgebaut sind. Neben dieser Art von VLP's kann Polyoma VP1 auch noch kleinere Formen sowie stäbchenförmige VLP's ausbilden (Salunke et al., 1989, Biophys. J. 56, 887-900). Die VLP's können durch die rekombinante Produktion der Kapsomere in Insektenzellen oder Hefe hergestellt werden. Bei dieser Produktion werden direkt VLP's isoliert. Die rekombinante Expression von Kapsomeren in Escherichia coli führt zur Gewinnung von nicht-assemblierten Kapsomeren, diese können in vitro zu VLP's assembliert werden. Dieser Assemblierungsprozess wird häufig in Gegenwart stabilisierender Salz wie Ammoniumsulfat durchgeführt. So erfolgt eine Assemblierung von Polyoma VP1 unter diesen Bedingungen zu homogen strukturierten VLP's. Der Einsatz erforderlicher hoher Konzentrationen dieses

Salzes bei der Assemblierung resultiert in hohen Ionenstärken des Puffers, was eine Bindung von Nukleinsäuren und anderen biologisch aktiven Makromolekülen an die Kapsomere beeinträchtigt. Daher ist Ammoniumsulfat ungeeignet für den Einsatz bei einer mit der Assemblierung von Kapsomeren, an die Makromoleküle gebunden sind, einhergehenden Verpackung von biologisch aktiven Makromolekülen.

Das Kapsomer des Polyomavirus VP1 ist in der Lage, biologisch aktive Makromoleküle zu binden. Eine Bindungsstelle des Proteins für Nukleinsäuren ist in der N-terminalen Sequenz lokalisiert, die einen hohen Anteil an positiv geladenen Aminosäuren enthält (Moreland et al., 1991, J. Virol. 65, 1168-1176). An diese Sequenz können auch andere Makromoleküle binden. Die Bindung von Polyoma VP1 an Plasmid-DNA verhindert die in vitro-Assemblierung zu VLP's. Daher beruhen die aktuellen Verfahren der Komplexbildung von Polyoma VP1 mit Plasmid-DNA auf der Wechselwirkung von bereits assemblierten VLP's mit DNA. Die beschriebene Prozedur führt zu einer Interaktion von VP1 und DNA, in der die DNA partiell gegen DNase-Verdau geschützt wird. Mit diesen Komplexen können Zellen sowohl in vitro als auch in vivo transduziert werden.

Die Effizienz der Komplexbildung von VLP's und DNA sowie der Grad des DNase-Schutzes erweist sich allerdings als sehr gering (Forstova et al., 1995, Hum. Gene Ther. 6, 297-306). Dies ist darauf zurückzuführen, daß Plasmid-DNA bei Inkubation mit VLP's nur in sehr geringem Maße in die VLP's aufgenommen werden, der Großteil der von VLP's gebundenen DNA verbleibt außerhalb der VLP's und liegt bestenfalls mit der Oberfläche der VLP's assoziiert vor, ohne verpackt zu sein. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch für die Verpackung von Oligonukleotiden erhalten. In beiden Fällen konnte die Effizienz der Komplexbildung durch Absenken des pH-Wertes während der Komplexbildung auf pH 5 deutlich verbessert werden, dennoch führt dieses Verfahren nicht zu einer Verpackung der eingesetzten Nukleinsäuren.



Zur Verpackung speziell von Proteinen in VLP's wurde an den N-Terminus von Polyoma VP1 eine WW-Domäne fusioniert, die Prolin-reiche Sequenzen binden kann. Mit dieser Variante konnte GFP, an das eine Prolin-reiche Sequenz anfusioniert wurde, gebunden und in die VLP's verpackt werden (Schmidt et al., 2001, FASEB J. 15, 1646-1648).

Der Erfindung liegt das Problem zugrunde, ein neues Verfahrens zur in vitro-Assemblierung von Kapsomeren des Polyomavirus in VLP's oder zur Verpackung biologisch aktiver Makromoleküle während der in vitro-Assemblierung von Kapsomeren zu entwickeln, bei dem eine hohe Effizienz der Assemblierung und ein hoher Verpackungsgrad für biologisch aktive Makromoleküle erzielt wird.

Gelöst wird das Problem dadurch, dass Kapsomere des Polyomavirus oder Kapsomere des Polyomavirus, an die mittels ionischer Interaktionen biologisch aktive Makromoleküle gebunden sind, in Gegenwart eines oxidierenden Redoxsystems und nicht-ionischer Stabilisatoren in einem Puffer mit einer Ionenstärke unter 250 mM assembliert werden. Als Makromoleküle kommen insbesondere, aber nicht ausschließlich, Nukleinsäuren wie doppelsträngige DNA, doppelsträngige RNA, einzelsträngige DNA und einzelsträngige RNA, PNA's, Proteine oder Peptide in Frage. Die Größe der zu verpackenden Nukleinsäure ist bevorzugt, aber nicht ausschließlich 10 – 5400 Basen, vorzugsweise 20 – 1000 Basen.

Das Verfahren beruht auf dem überraschenden Effekt, dass nicht-ionische Stabilisatoren die Assemblierung von Kapsomeren zu VLP's begünstigen. Als nicht-ionische stabilisierende Substanzen können Zucker mit C3, C4, C5 und C6-Einheiten dienen wie etwa Glycerin, Trehalose, Fructose oder Sorbitol, aber auch Disaccharide wie Saccharose oder Galaktose und Oligosaccharide wie Amylose oder Amylopektin.

Alternativ zu Zuckern können als Stabilisator auch Polyole wie Ethylenglykol oder Polyethylenglycol verschiedener Kettenlängen eingesetzt werden.

Die nicht-ionische Substanz wird dem Puffer in Konzentrationen von 5–50 % (w/v) zugesetzt, vorzugsweise im Konzentrationsbereich von 15–30 % (w/v).

Kapsomere des Polyomavirus oder Kapsomere des Polyomavirus mit gebundenen Makromolekülen werden in einem Konzentrationsbereich von 50 µg/ml – 5 mg/ml zu VLP's assembliert, vorzugsweise von 0.25 – 2 mg/ml, bei einem pH von pH 7 – 8.5 und Temperaturen zwischen 15 und 30°C vorzugsweise pH 7.2 – 7.5 und einer Temperatur von 20 – 25°C. Als Puffersubstanzen können beispielsweise Tris, Hepes und Phosphat dienen, bevorzugt in Konzentrationen von 10 – 100 mM.

Die Assemblierung wird unter oxidierenden Bedingungen durchgeführt. Dies kann die Oxidation durch molekularen Sauerstoff beinhalten oder bevorzugt die Oxidation mit Hilfe eines Redoxsystems aus oxidierten und reduzierten thiolhaltigen Substanzen wie reduziertes und oxidiertes Glutathion, Cystein/Cystin, Cysteamin/Cystamin, reduziertes/oxidiertes  $\beta$ -Mercaptoethanol oder aromatische thiolhaltige Substanzen. Diese werden bevorzugt als Gemisch von oxidiert zu reduzierter Substanz in einem Verhältnis von 1:10 bis 10:1 oder durch ausschließliche Zugabe der oxidierenden Substanz eingesetzt.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Assemblierung von Kapsomeren erfolgt das Inkontaktbringen der zu assemblierenden Kapsomeren oder der Kapsomeren, an die biologisch aktive Makromoleküle gebunden sind, mit dem Assemblierungspuffer, indem die Kapsomere mit dem Assemblierungspuffer verdünnt und/oder dialysiert werden. Grundsätzlich muß eine Umpufferung der Kapsomeren in den Assemblierungspuffer gewährleistet sein.

Die Verpackung biologisch aktiver Makromoleküle während der Assemblierung erfolgt vorzugsweise durch Inkubation der Makromoleküle mit den Kapsomeren. Die Proteinkonzentration liegt dabei im Bereich von 0.05 – 5 mg/ml, vorzugsweise bei 0.25 – 2 mg/ml.

Die an die Kapsomere gebundenen Makromoleküle werden bei der Assemblierung in die resultierenden VLP's mit hoher Effizienz verpackt. Dies betrifft sowohl die Menge an verpackten Makromolekülen pro VLP als auch den relativen Anteil an VLP's, in die Makromoleküle verpackt wurden. Zur Überprüfung der Verpackung biologisch aktiver Makromoleküle in VLP's werden die nicht-verpackten Makromoleküle mit Hilfe von DNasen, RNasen oder Proteasen verdaut und der verpackte und somit vor Abbau geschützte Anteil mittels Agarose-Gelelektrophorese oder Chromatographie quantifiziert werden. Es ist dabei besonders darauf zu achten, dass auch Makromoleküle, die unspezifisch mit den VLP's assoziiert vorliegen, abgebaut werden. Dies ist dadurch zu analysieren, daß die Effizienz der Verpackung in Abhängigkeit der eingesetzten DNase-, RNase- bzw Protease-Konzentration bestimmt wird.

Die vorliegende Erfindung wird im folgenden anhand von Ausführungsbeispielen beschrieben. Dabei wird auf folgende Abbildungen Bezug genommen:

**Abbildung 1:**

Assemblierung von Polyoma VP1 zu virusanalogen Partikeln in vitro

**Abbildung 2:**

Verpackung von DNA durch in vitro-Assemblierung von Polyoma VP1

**Abbildung 3:**

Bindung von doppelsträngiger DNA an VP1

**Abbildung 4:**

Quantifizierung der dsDNA Bindung an VP1

**Abbildung 5:**

Einfluß der Ionenstärke auf die Bindung von dsDNA

**Abbildung 6:**

Bindung von einzelsträngiger DNA an VP1

**Abbildung 7:**

Bindung von einzelsträngiger RNA an VP1

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von virusanalogen Partikeln durch in vitro-Assemblierung von Kapsomeren des Polyomavirus oder Assemblierung von Kapsomeren des Polyomavirus, an deren geladene Aminosäuren biologisch aktive Makromoleküle gebunden sind, bei gleichzeitiger Verpackung der Makromoleküle in Gegenwart nicht-ionischer Stabilisatoren.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Kapsomere oder Kapsomere, an die biologisch aktive Makromoleküle gebunden sind, in einem Puffer einer Ionenstärke <250 mM in Gegenwart eines oxidierenden Redoxsystems assembliert werden.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass als biologisch aktive Makromoleküle dsDNA, ssDNA, dsRNA, ssRNA, PNA, Ribozyme, DNAzyme, RNAi, Peptide- oder Proteine-codierende DNA, Peptide oder Proteine verwendet werden.
4. Verfahren nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass als Stabilisatoren Zuckerverbindungen der Klassen der C3- C4-, C5-, C6- Verbindungen als Monosaccharide oder Oligo- bzw Polysaccharide oder andere Polyole wie Ethylenglykol oder Polyethylenglykol eingesetzt werden.